

ウシ卵への卵細胞質内精子注入法によるヒト精子中心体機能評価

著者	中村 聡一
号	3278
発行年	2002
URL	http://hdl.handle.net/10097/22385

氏 名（本籍） なか むら そう いち
中 村 聡 一

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 2 7 8 号

学位授与年月日 平 成 14 年 3 月 6 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 平 成 5 年 3 月 24 日
弘前大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 ウシ卵への卵細胞質内精子注入法によるヒト精子
中心体機能評価

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 八重樫 伸 生 教授 岡 村 州 博

教授 笹 野 公 伸 教授 笠 井 憲 雪

論文内容要旨

目 的

ヒト受精において精子は卵細胞質内に侵入すると、精子頸部に存在する精子中心体より微小管の形成を誘導し精子星状体が形成される。精子星状体は前核形成とともに卵内に拡がり、雌雄前核の融合を誘導する。このような精子中心体機能は受精過程に必須のものと考えられており、その機能障害が不妊症と関連している可能性がある。しかしながらヒト精子の中心体機能を評価する適当な方法は未だ見いだされていない。そこで今まで未解明であったヒト精子中心体機能を評価する方法を確立し、不妊症例の精子中心体機能の評価、不妊症と精子中心体機能異常との関連につき明らかにすることを目的として以下の実験を行なった。

方 法

全ての実験は「東北大学における動物実験に関する指針」に従い、本大学倫理委員会の承認（承認番号 2000, 21）と患者のインフォームドコンセントを得たうえで行なった。

妊孕性のあるドナー 3 名、及び不妊症を呈する奇形精子症である globozoospermia の一症例の精子を採取し、それぞれの精子を受精時にヒトと類似した微小管の形成を示すウシ卵に ICSI を施行した。Buffer M, メタノールを用いた固定の後、蛍光抗体法による免疫染色を行ない雌雄核相、及び微小管（精子星状体）の形成を観察した。

更に ICSI 後 4 時間で 7% エタノールを用いて卵活性化を施行した群（活性化群）と、エタノールを用いた卵活性化を施行しなかった群（非活性化群）とで比較を行なった。有意差の検定には χ^2 検定を用い、P 値が 0.05 未満を有意差ありとした。

結 果

ICSI 後のウシ卵に第 2 極体の放出、雌雄前核の形成、精子星状体の形成が認められた。ICSI 後 6 時間での精子星状体の形成率は活性化群では 62.9% (39/62)、非活性化群では 60.0% (15/25) であった。両群間で有意差は認められなかった。また ICSI 後 8-12 時間での雄性前核の形成率は活性化群で 79.7% (67/84)、非活性化群では 83.3% (45/54) であり、雄性前核の形成率に関しても ethanol による卵活性化による有意差は認められなかった。

globozoospermia の一症例の頭部円形精子をウシ卵内に ICSI した場合も精子星状体の形成と、雌雄前核の形成が確認された。しかし、頭部円形精子の非活性化群では妊孕性のある精子の非活性化群に比較し、精子星状体の形成率は 15.8% (3/19)、雄性前核の形成率は 31.0% (13/42)

と有意に低く、卵活性化障害が原因となる Premature chromosome condensation of the sperm nucleus (PCC) の率が 54.7% (23/42) と有意に高かった。エタノールによる卵活性化を行なうことにより雄性前核の形成率は妊孕性のある精子と同程度に 84.9% (45/53) と上昇したが、精子星状体の形成率はエタノールによる卵活性化処理では改善されず 32.3% (11/34) と頭部円形精子における非活性化群と有意差は認めなかった。

結 論

受精時にヒトと類似した微小管の形成を示すウシの卵にヒト精子を ICSI することで雌雄前核が形成されヒト精子はウシ卵を活性化する能力を有すること、及びウシ卵内で精子星状体の形成が確認されヒト精子中心体機能がウシ卵内で発現することが明らかとなった。すなわち本研究の手法を用いることにより、今まで不明であったヒト精子中心体の機能評価とともに、精子の卵活性化能の評価ができることが示唆された。

本法を用いて globozoospermia の一症例の精子について検討したところ、妊孕性のある精子に比較して卵活性化能の低下と精子星状体形成率の低下が認められ、卵活性化能及び精子中心体機能が障害されていることが示唆された。

以上より本法は、従来原因不明とされた体外受精、胚移植や ICSI での受精障害症例における原因解明の手がかりを提供する有用な検査法と考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究では、ヒト精子中心体の機能を評価する方法を確立するために、ウシ卵を用いて実験を行なった。本研究は従来原因不明とされた体外受精・胚移植や顕微授精での受精障害を呈する症例において、原因解明の手がかりを与える有用な検査法となる可能性があり、本研究によって得られた研究成果の臨床的意義は深い。

本研究成果として、ウシ卵にヒト精子を顕微受精することによってウシ卵が活性化されること、雌雄前核が形成されること、さらにウシ卵内で精子星状体が形成されることなどが始めて明らかになった。すなわち本研究の手法を用いることによって、今まで不明であったヒト精子中心体の機能評価とともに精子の卵活性化能を評価できることが示唆された。さらに受精能が低下したヒト頭部円形精子症患者の精子機能を本法によって評価し、本法が臨床的にも応用可能であることを示した。

第一次審査において、この研究は学位に十分値するとの評価であったものの、以下の点で一部修正を求められた。1. 考察の中で新たなヒト精子の機能解析法であることを強調すること。また形態異常や受精障害を示す症例では本検査法を行なうことが望ましい、という記載を加えること。2. 本研究の方法が他の研究者のものとどう違うかを明記すること。3. 倫理委員会の承認番号を明示すること、またウシ卵は使用後ただちに廃棄したことを明記すること。

最終審査では、上記すべての項目に対し適切に訂正加筆がなされていることを確認し、内容的にも十分に学位論文に値するとの結論に達した。

ただし最終審査では学位論文を提出する前にさらに以下の3点のマイナーな修正が求められた。

1. 表1と3、表2と4をそれぞれ一つにすること。
2. 東北医学会雑誌の投稿規定に従うこと。
3. 図の説明を図とは別にすること。